

PRODUCTION OF POLY-3-HYDROBUTYRATE

Publication number: JP3236784 (A)

Publication date: 1991-10-22

Inventor(s): SAITO YUJI; TOMOSAWA TAKASHI; SATO KATSUO; NIIMURA YASUKO;
SHIBAYAMA MASAKO

Applicant(s): TAISEI CORP

Classification:

- **international:** C12P7/42; C02F3/12; C08G63/06; C12R1/00; C12P7/40; C02F3/12; C08G63/00;
(IPC1-7); C02F3/12; C08G63/06; C12P7/42

- **European:**

Application number: JP19900031584 19900214

Priority number(s): JP19900031584 19900214

Abstract of JP 3236784 (A)

PURPOSE:To inexpensively recover useful resources by culturing activated sludge while controlling concentration of organic carbon in a medium and suppressing formation of glycogen.

CONSTITUTION:Activated sludge is cultured in a medium containing sufficient glucose, a yeast essence-based substrate and a water-soluble element such as N, P or S to give activated sludge (A) having high concentration of cell. Then the component A is aerobically cultured in a medium containing 2.0-4.0g/l concentration of organic carbon such as acetic acid, butyric acid or propionic acid and not containing a nitrogen source at pH6-8 at 25-30 deg.C by semi-batch method to give a component B. Then the culture is continued for several hours to several days, the N source in the component B is extinguished and poly-3- hydrobutyrate (PHB) (C) is accumulated. Then the culture is carried out to make 40-60wt.% carbon amount per cell unit weight and the culture is stopped to give a culture mixture (D). Then the cell is separated from the component D and the prepared cell is extracted and separated to produce poly-3- hydrobutyrate.

.....
Data supplied from the esp@cenet database — Worldwide

⑫ 公開特許公報(A) 平3-236784

⑬ Int. Cl.⁵

識別記号

庁内整理番号

⑭ 公開 平成3年(1991)10月22日

C 12 P 7/42
 C 08 G 63/06
 // C 02 F 3/12
 (C 12 P 7/42
 C 12 R 1:00)

NLP

Z

8114-4B
 7211-4J
 7824-4D

審査請求 未請求 請求項の数 2 (全4頁)

⑮ 発明の名称 ポリ-3-ヒドロブチレイトの製造方法

⑯ 特 願 平2-31584

⑰ 出 願 平2(1990)2月14日

⑱ 発 明 者	斎 藤	祐 二	東京都新宿区西新宿1丁目25番1号	大成建設株式会社内
⑱ 発 明 者	友 沢	孝	東京都新宿区西新宿1丁目25番1号	大成建設株式会社内
⑱ 発 明 者	佐 藤	勝 雄	東京都新宿区西新宿1丁目25番1号	大成建設株式会社内
⑱ 発 明 者	新 村	泰 子	東京都新宿区西新宿1丁目25番1号	大成建設株式会社内
⑱ 発 明 者	柴 山	雅 子	東京都新宿区西新宿1丁目25番1号	大成建設株式会社内
⑲ 出 願 人	大成建設株式会社		東京都新宿区西新宿1丁目25番1号	
⑳ 代 理 人	弁理士 山口 朔生			

明 細 書

<従来の技術>

1. 発明の名称

ポリ-3-ヒドロブチレイトの製造方法

P H B を微生物の細胞内に高濃度に貯蔵させる方法には、培地中の窒素源を欠乏させ、かつ基質炭素源として酢酸などの脂肪酸を多量に供給する培養法がある。

2. 特許請求の範囲

(1) 培地中の有機炭素濃度をコントロールすることにより、グリコーゲンの生成を抑制し、ポリ-3-ヒドロブチレイトを選択的に貯蔵させることを特徴とするポリ-3-ヒドロブチレイトの製造方法。

しかし活性汚泥のような様々な微生物群を対象にした場合、単に基質炭素源を多量に供給するだけでは、基質炭素源は P H B 以外にグリコーゲンやポリ糖類などの合成にも利用され、P H B 生成率向上は期待できず非常に不経済である。

(2) 培地中の有機炭素濃度を2.0~4.0g/l に保持して実施する請求項(1)の製造方法。

そのため、従来の汚泥廃棄処理では、最終的に焼却あるいは埋め立てにより廃棄炭素源をCO₂または未分解物質のまま自然界に放出してきた。

3. 発明の詳細な説明

<産業上の利用分野>

本発明は、活性汚泥を用いて生物分解性バイオプラスチックであるポリ-3-ヒドロブチレイト(β-ヒドロキシ酪酸、以下、P H B と略記する)を選択的に製造する方法に関する。

<本発明が解決しようとする課題>

本発明は、上記の問題点に着目してなされたもので、従来、焼却、埋め立て処理がなされ活性汚泥の培養により、有用資源である P H B を選択的に製造することができる方法を提供することを課

題とする。

<課題を解決するための手段>

エネルギー貯蔵物質であるグリコーゲンは、PHBよりも貯蔵しやすいことが今までの実験から明らかとなっている。

またこれらの貯蔵には基質濃度が大きく影響すると考えられる。

そこで本発明者らは、窒素制限基質を用いたバッチ試験を行い、経時的なPHBおよびグリコーゲンの生成と、基質消費との関係について検討した結果、有機炭素濃度のコントロールによりPHBの貯蔵を促進できることを見出し、本発明を完成させるに至った。

すなわち、本発明のPHBの製造方法は、培地中の有機炭素濃度をコントロールすることにより、グリコーゲンの生成を抑制し、PHBを選択的に貯蔵させることを特徴とする。

本発明において、活性汚泥は特定の微生物を含む菌体には限定されず、通常の下処理産物などの

(普通は水溶性塩)を添加する。

このような元素源には、窒素、リン、イオウ、カリ、ナトリウム、マグネシウム、カルシウム、鉄のほか、マンガン、亜鉛、銅などの微量元素がある。

このときの炭素源、窒素源は通常用いられるものであれば何であってもよい。

次に、菌体濃度が高くなった活性汚泥を、再びバランスのとれた基質に投入し、セミバッチの好気培養を行う。このとき供給する基質中には窒素源を含ませない。pHは6~8の範囲が適当である。pHの調整は、例えば10%塩酸および10%のNaOH水溶液を用いて行う。培養温度は、25~30℃の範囲が好ましい。

なお、第2ステップの培養を第1ステップの培養に連続して行ってもよいが、希釈効果により窒素負荷が急激に減少するから、この場合には、供給する基質中の窒素源を徐々に減らすようにしなければならない。

第2ステップにおける供給基質中の炭素源は、

汚泥をそのまま使用することができる。

活性汚泥の培養では、通常適切な栄養源のバランスとして、

$$BOD : N : P = 100 : 5 : 1$$

が望ましいとされている。

しかし、このNを単に0としただけでは、PHBの蓄積は微量であり、エネルギー貯蔵物質として、グリコーゲンが多量に蓄積される。

本発明では、貯蔵促進のための制限栄養素を窒素とし、有機炭素濃度をコントロールすることにより、PHBの蓄積に成功したのである。

培地中の有機炭素濃度は、後に詳述するように、(第4図参照)2.0~4.0g/lとするのが適している。

まず、活性汚泥の菌体濃度を上げるために、バランスのとれた十分な基質で、連続あるいはセミバッチの好気培養を行う。

基質としては、特に限定されず、例えば通常微生物の培養に用いられる十分なグルコース、酵母エキス系基質に、一般に同化できる形態の元素源

PHB(あるいはその重合体)に代謝できる有機酸あるいはその塩類が望ましい。

好ましい有機酸を例示すると、酢酸、酪酸、プロピオン酸、吉草酸がある。

第2ステップの培養を行うと、最初のバランス基質中にあった窒素が菌体増殖に使用されて減少する。

これは数時間から数日の間にほとんど0になる。

0となるまでの期間は最初のバランス基質量、最初の投入汚泥量に依存するから、これらを変えることにより培養期間をコントロールすることができる。

かくして、窒素が消滅した段階から、PHBの蓄積が始まる。

蓄積が始まると、菌体単位重量当たりの炭素量が増えてくるから、炭素量/乾燥菌体単位重量の値を指標にして培養を続ける。

この値がある一定値(約40~60%)に収束し、あまり増えなくなった段階で培養を中止する。

その後、菌体を乾燥させ、常法に従ってPHBおよび重合体を抽出分離する。

<実施例1>

500ml 三角フラスコを12個用い、ロータリー式振盪培養機によって培養を開始した。

各三角フラスコにMLSS4000mg/lに調整した活性汚泥を150ml投入し、酢酸ナトリウム系基質(10g-TOC/l, 20mg-N/lに調整したもの)を150ml添加し実験を開始した。

経過時間に従って、サンプル時に培養中の三角フラスコを1個回収し、PHB、グリコーゲン、酢酸さらに菌体濃度および組成の経時変化を分析した。

第1図にTOC、酢酸およびアンモニア態窒素の経時変化を示す。

また第2図には菌体、PHBおよびグリコーゲン中の炭素濃度の経時変化を示す。

TOCおよび酢酸は培養開始から144時間まで指数的に減少した。

解過程へと移行している。

一方、PHB生成速度は、TOC濃度4g/lあたりから急激に上昇し、2.5g/lで最大となり、それ以降減少し分解過程に移行している。

このことから常に培地中の炭素濃度を2.0~4.0g/l程度に制御すれば、グリコーゲンの生成を抑制し、かつPHBを効率的に生成させることができる。

<本発明の効果>

以上説明したように、本発明によれば、多種多様の微生物集団では活性汚泥の培養によって、生分解性バイオプラスチックとされるPHBを選択的に蓄積、製造することができる。

従って、本発明による培養方法を排水処理システムの中に応用することにより、有用資源を有効に回収することができるから、現在焼却その他に多大のコストを要する活性汚泥の処理コストの低減と共に、余剰汚泥発生量の低減にも役立つ。

これに伴い菌体中の炭素濃度は急激に上昇し、同時にPHB、グリコーゲンの細胞内への蓄積・生成が確認された。

しかし、培地中の酢酸が欠乏した144時間以降は、両エネルギー貯蔵物質とも減少する傾向を示した。

第3図に消費TOCに対するPHBおよびグリコーゲンの貯蔵率の経時変化を示す。

17時間後はTOCの35%以上がグリコーゲン生成に利用され、その後グリコーゲン生成率は直線的に減少した。

一方、PHBの合成は96時間まで進行し、その後なだらかに減少した。

このようにグリコーゲンとPHBの生成・分解にはタイムラグがあることがわかる。

次に培地中のTOC濃度に対するPHBおよびグリコーゲンの生成速度について検討した。

第4図に培地中のTOC濃度の減少に従ってグリコーゲン生成速度は徐々に低下し、TOC濃度2.5g/lで合成が停止し、低濃度になるに従い分

4. 図面の簡単な説明

第1図は本発明の実施例によるTOC、酢酸およびアンモニア態窒素の経時変化を示すグラフ、

第2図は菌体、PHBおよびグリコーゲン中の炭素濃度の経時変化を示すグラフ、

第3図は消費TOC濃度に対するPHBおよびグリコーゲンの生成速度を示すグラフである。

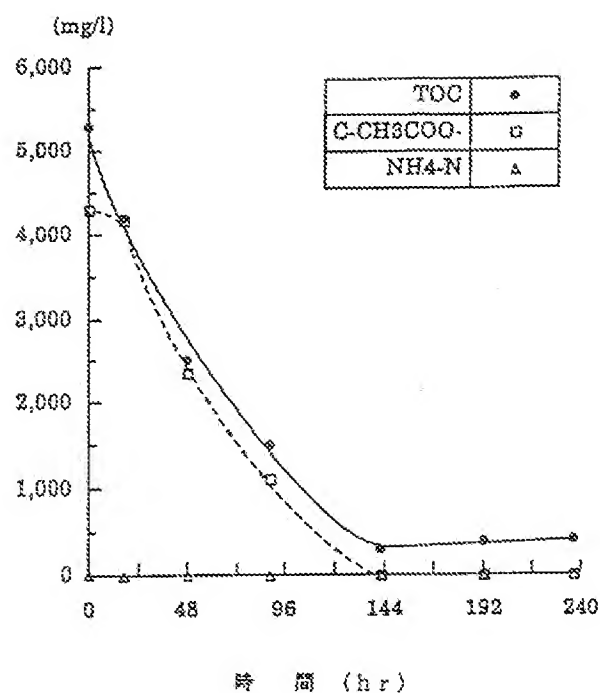
第4図は除去TOCに対するPHBグリコーゲンの貯蔵率を示すグラフである。

出願人 大成建設株式会社

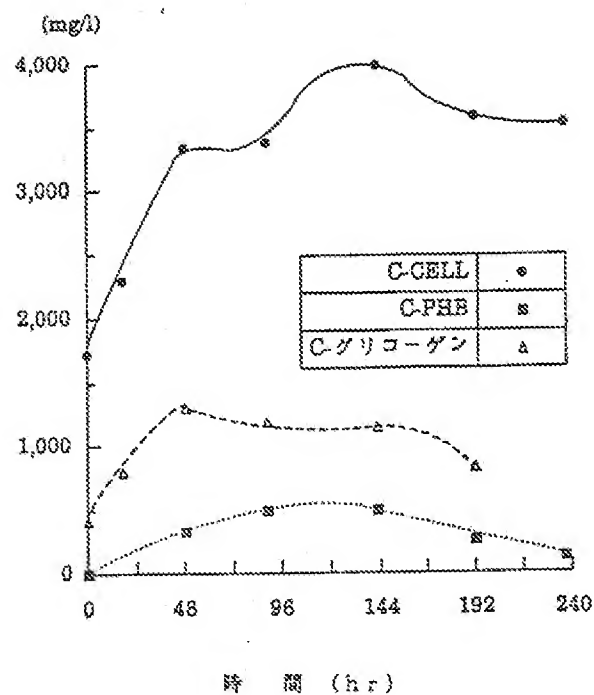
代理人 弁理士 山口翔生



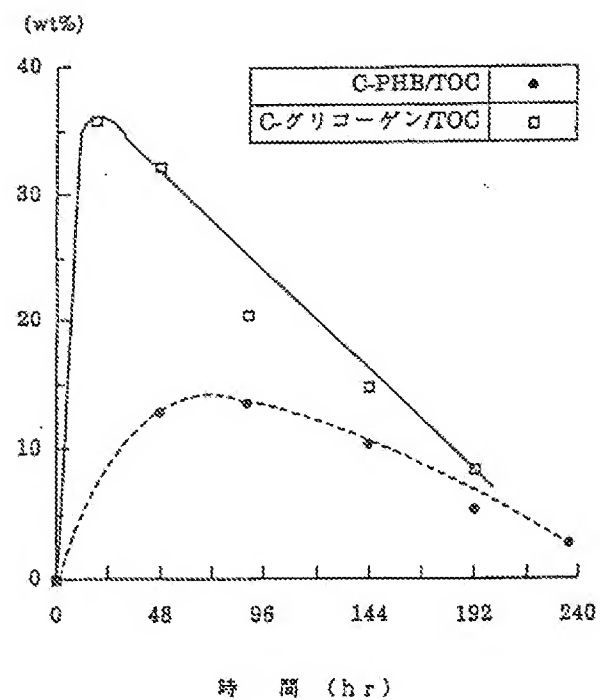
第 1 図



第 2 図



第 3 図



第 4 図

